

## LC-MS/MS 및 ICP를 이용한 당뇨환의 화학적 특성 분석

인정도<sup>1</sup>, 임대식<sup>2</sup>, 문승호<sup>3</sup>, 김원일<sup>1</sup>

<sup>1</sup>동의대학교 한의과대학 내과학교실, <sup>2</sup>순천향대학교 자연과학대학 화학과, <sup>3</sup>(주)아이씨비

### Characteristic Effects of *Dangnyo-hwan* for Diabetes Control Studied Using LC-MS/MS and ICP

Jeong-do In<sup>1</sup>, Dai-sig Im<sup>2</sup>, Seung-ho Moon<sup>3</sup>, Won-ill Kim<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dept. of Oriental Internal Medicine, College of Oriental Medicine, Dong-Eui University

<sup>2</sup>Dept. of Chemistry, College of Natural Sciences, Soonchunhyang University, <sup>3</sup>R&D Center, ICB

#### ABSTRACT

**Objectives:** The primary aim of this study was to identify bioactive compounds in *Dangnyo-hwan*, a Korean herbal medicine, through instrumental analysis using LC-MS/MS and ICP, and investigate its potential use in diabetes treatment.

**Methods:** The extract of *Dangnyo-hwan* has 12 medicinal herbs; these were compared with 18 marker substances selected from literature survey.

**Results:** LC-MS/MS analysis could detect 9 of the 18 bioactive compounds: citrulline, catalpol, berberine, ginsenoside Rb1, ginsenoside Rg1, oleanolic acid,  $\beta$ -sitosterol, mangiferin, and schizandrin. While harmful heavy metals such as As, Pb, Cd, Hg, Ni, and Cu were not present in high concentrations, Zn concentration was 4.2 mg in 100 g *Dangnyo-hwan*.

**Conclusions:** Instrumental analysis such as LC-MS/MS and ICP was successfully used to identify bioactive compounds in *Dangnyo-hwan*. Detection of 9 bioactive substances and Zn from the herb medicine is a valuable finding, and suggests that *Dangnyo-hwan* is a candidate medicine for diabetes. Further investigations like *in vitro* assay, percent GPR 119 activity, and percent human DGAT-1 inhibition are underway.

**Key words:** *Dangnyo-hwan*, diabetes, LC-MS/MS, ICP, marker substances

## 1. 서론

당뇨병은 21세기 들어 가장 급격히 증가하는 유행병으로 우리나라는 당뇨로 인한 사망률이 OECD 국가 중 2위를 차지하고 있다. 국민건강통계에 따르면 30세 이상 성인의 11.9%가 당뇨병을 진단받은 것으로 나타났으며, 남녀모두 소득수준이 높을

수록 유병률이 높은 것으로 보고되고 있다<sup>1</sup>.

당뇨병은 혈당조절에 필요한 인슐린의 절대적 혹은 상대적 결핍 및 조직에서의 인슐린 작용성 저하에 기인한 고혈당과 그에 수반되는 대사 장애로 정의한다<sup>2</sup>. 당뇨병은 제1형과 제2형으로 구분되는데, 제1형 당뇨병은 우리 몸 췌장에서 인슐린을 만들어내지 못하는 질환으로, 어린이나 40세 미만에게 주로 나타나며 제2형 당뇨병은 인슐린 효과가 감소하는 가장 흔한 당뇨병으로 과식, 운동 부족 등 환경적 요인이 크게 작용하고 어느 연령층에서나 발병 가능한 질환이다<sup>2,3</sup>. 서양의학적으로 인슐

· 투고일: 2015.06.19, 심사일: 2015.09.23, 게재확정일: 2015.09.26

· 교신저자: 김원일 부산시 진구 양정로 62

동의대부속한방병원 한방3내과

TEL: 051-850-8630 FAX: 051-867-5162

E-mail: omdstar@deu.ac.kr

린요법을 비롯한 다양한 약물과 진로지침이 활용되고 있으나 약물의 부작용과 장기간 관리의 한계점으로 다양한 합병증과 부작용이 유발되고 있다<sup>3</sup>.

당뇨병의 경우 한의학에서는 消渴과 비슷하며 크게 上, 中, 下消 등으로 구분하여 그 치료방법 또한 변증에 의해 세분화되어 발전되어 왔고<sup>2</sup>, 최근 한의학에 대한 관심이 고조되면서 임상에서 다양한 방법으로 당뇨병 환자를 관리하고 있으며 이의 유효성에 대한 과학적이고 객관적인 근거의 제시가 필요한 실정이다. 한의계에서 복합처방의 효능을 분석하기 위한 근거중심의 연구로 처방에 대한 실험적 효과와 임상적 보고에 대한 연구가 주류를 이루고 있지만<sup>4</sup>, 약효의 확인과 유효성분의 검출을 위해서 약리학적 분석틀을 이용한 약리활성 연구와 한약의 표준화를 위한 화학적 분석연구는 상대적으로 미비한 실정이다. 하지만 최근 들어 기기분석장비를 이용한 천연 추출물 또는 한방약제에 대한 연구가 활발한데 예를 들면 사물당 추출물에 대한 GC 분석 및 HPLC-MS/MS 분석<sup>5</sup>, 발효더덕의 화학성분 분석<sup>6</sup>, 천연 강황 추출물의 화학적 특성 분석<sup>7</sup>, 그리고 LC-MS/MS를 이용한 당귀수산 추출물의 함량분석<sup>8</sup> 등이 보고되었다. 처방의 효과를 나타내는 지표물질의 분석과 관련된 연구로는 태음인 가미조위탕의 HPLC 분석을 통해 ephrine과 schizandrin이 품질표준화시 지표물질로의 가능성을 확인한 발표<sup>9</sup>도 있었는데, 이는 비만치료제 개발을 위한 연구가 핵심목표였고 당뇨병에 대해서는 아직까지는 단순 복합처방이나, 천연물 추출물을 이용한 동물실험 등이 주를 이루고 있는 실정이다<sup>4</sup>.

당뇨병에 효과적인 치료처방의 개발에 일환으로 저자가 임상에서 당뇨병에 응용하고 있는 처방인 당뇨병을 우선 분석의 대상으로 삼았는데, 당뇨병은 군약인 천화분을 비롯해 淸熱補陰이나 淸火生津, 生津止渴하는 효능의 약제로 구성되어 있으며 당뇨병에 효과적인 여러 처방을 비교분석하여 변형 처방한 임상경험방으로 기존의 연구<sup>4</sup>에서 天花粉을

비롯한 生地黃, 白僵蠶, 麥門冬, 人蔘 등의 약물이 당뇨병에 효과적이라고 실험되었으나 복방의 효과검증과 동시에 방제의 중요한 역할인 각 약제가 처방 내에서 어떠한 역할을 하는지에 대한 실험적인 연구가 필요하였다.

이에 저자는 천연물에 존재하는 다양하고, 많은 화합물들을 동시에 분석하기 위하여 HPLC와 연결하여 질량분석기를 복합한 이중 기기연결(HPLC-MS/MS)을 통해 보다 정확한 성분분석을 수행하였다. 개별약제의 화학적 분석과 복합처방의 효능 비교를 통해 당뇨병의 치료에 어떤 약물들이 어떤 약리기전과 작용으로 효과를 발휘하는지 밝히기 위해서 각 약제의 문헌고찰을 통해 당뇨치료 약리물질의 표준품을 대조물질로 하여 HPLC-MS/MS (High Performance Liquid Chromatography-Mass/Mass Spectrometer)를 이용하여 당뇨병 치료의 유용한 성분들에 대한 정성 및 정량분석을 실시하였으며, ICP(Inductively Coupled Plasma Atomic Emission Spectroscopy) 분석을 통해 당뇨병에 포함되어 있는 아연(Zn) 및 중금속 함량을 측정하여 의미 있는 결론을 얻었기에 보고하는 바이다.

## II. 연구대상 및 방법

### 1. 실험재료

본 실험에 사용된 당뇨병의 전체 조성은 Table 1에 나타내었다. 천화분, 생지황 등 12종의 한약재는 울산한약품(한국)에서 규격품을 구입, 정선하여 각 생약별로 분쇄기를 사용하여 분말로 하고 분량대로 잘 섞은 후 찹쌀풀로 호환을 만들어 사용하였다. 화학 성분분석을 위하여 분말의 형태로 메탄올 단일 또는 혼합용매에 침적한 후 여과 직전에 진탕기(sonicator)로 30분간 진탕하고, 0.2 μm 마이크로 필터로 여과한 후, Rotary Evaporator로 감압 농축하여 시료를 준비하였다. 추출물은 -20 °C에 보관하였다가 분석실험 직전 분석기기별 용매에 녹여 사용하였다.

Table 1. Composition of Herbal Medicine for Diabetes

Herbal name	Drug name	Produce region	Dosage (g)
天花粉	<i>Trichosanthis Root</i>	Korea	10.5
生地黃	<i>Rehmanniae Radix</i>	China	7.5
白殭蠶	<i>Bombycis Corpus</i>	China	
麥門冬	<i>Lirioepis Tuber</i>	Korea	
人參	<i>Ginseng Radix</i>	Korea	4.5
五加皮	<i>Acanthopanax Cortex</i>	Korea	
白茯苓	<i>Hoelen</i>	Korea	
白扁豆	<i>Dolichoris Semen</i>	China	3.0
黃連	<i>Coptidis Rhizoma</i>	China	
知母	<i>Anemarrhenae Rhizoma</i>	China	
五味子	<i>Schizandrae Fructus</i>	Korea	63
蓮子肉	<i>Nelumbinis Semen</i>	China	
Total amount (g)			63

2. 시약 및 분석기기

생약 표준품으로 사용한 물질인 Citrullin, Cucurbitacin E, Bryonolic acid, Catalpol, Loganin(Iridoid glycoside), Conjugated linoleic acid(CLA), Sesamin, Kaempferol, Berberine chloride, Ginsenoside Rb1, Ginsenoside

Rg1, Oleanolic acid,  $\beta$ -Sitosterol, Ferulic acid, Betulinic acid, Mangiferin, Schizandrin, Tolbutamide는 Sigma-Aldrich 및 Fluka사 한국지사에서 구입하였으며 이들 화학물질의 화학구조식을 Fig. 1에 나타내었다. HPLC-MS/MS의 기기분석은 Thermo사 분석기기를 사용하였으며 Capcell PAK MGII 컬럼(3 um, 2×100 mm)을 사용하여 각 지표성분들에 대한 정성 및 정량분석을 실시하였다. 상세 분석조건은 Table 2-5에 정리하였다. 아연 및 잔류 중금속 분석시험의 경우 ICP(순천향대학교 고부가생물소재산업화지원 지역 혁신센터) 및 수은측정기를 이용, 약사법 제52조 제1항 ‘생약 등의 잔류오염물질기준 및 시험방법’에 의거 측정하였다.

당뇨환을 구성하여 여러 생약 내에 함유되어 있는 유효성분들은 여러 문헌<sup>10,11</sup>과 대한약전 및 대한민국의약전외 한약(생약)규격집 등을 참고하여 항당뇨, 혈당강하, 항산화 및 활성산소 억제 등의 약효에 의하여 당뇨치료 효과가 나타날 것으로 예측되는 성분을 표준품으로 선정하였다.

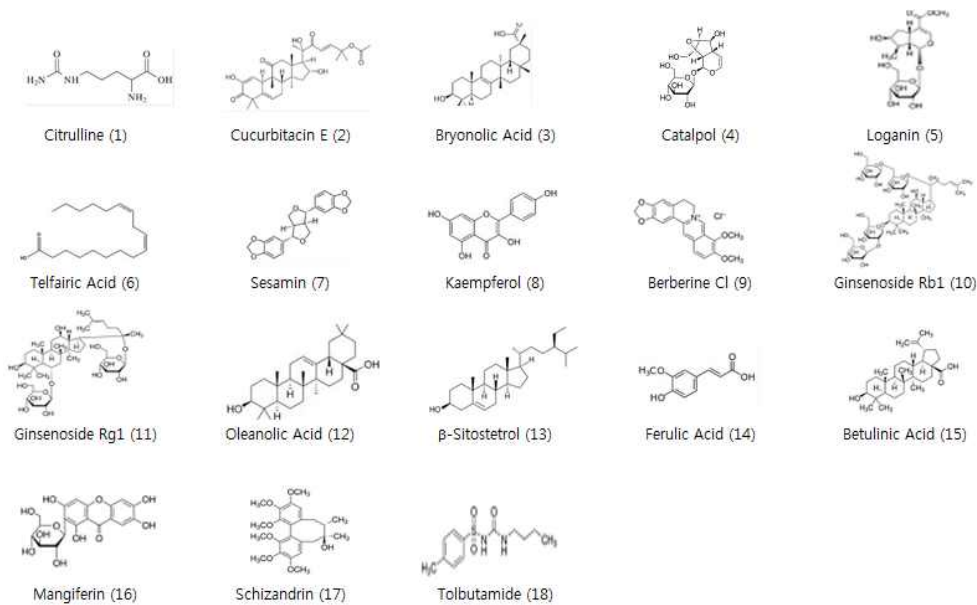


Fig. 1. Chemical structure of 18 marker substance.

Table 2. LC-MS/Ms Analytical Condition

Condition																																																																												
Mobile phase	Acetonitrile : DW (0.1% Formic-acid) 0~3.0 min (65:35, v/v) 3.01~5.0 min (90:10, v/v) 5.01~7.0 min (65:35, v/v)																																																																											
Flow rate	300 uL/min																																																																											
Injection volume	5 ul																																																																											
	XCALIBUR 2.0 software Spray voltage : Positive 5.0 kV Transfer capillary temperature : 350 °C Sheath gas pressure : 40 Aux gas pressure : 15 Collision energy (CE), SRM (Mass Break down)																																																																											
Mass condition (positive) for some ingredient substances	<table border="1"> <thead> <tr> <th>Ingredient substances</th> <th>Precursor Ion</th> <th>TL</th> <th>Product Ion</th> <th>CE</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Ferulic acid</td> <td>195.0</td> <td>82</td> <td>177.196</td> <td>10</td> </tr> <tr> <td>Tolbutamide</td> <td>271.1</td> <td>90</td> <td>91.128</td> <td>34</td> </tr> <tr> <td>Conjugated linoleic acid (CLA)</td> <td>281.2</td> <td>83</td> <td>263.379</td> <td>5</td> </tr> <tr> <td>Kaempferol</td> <td>287.1</td> <td>125</td> <td>153.157</td> <td>34</td> </tr> <tr> <td>Berberine chloride</td> <td>336.2</td> <td>99</td> <td>320.265</td> <td>31</td> </tr> <tr> <td>Sesamin</td> <td>355.2</td> <td>95</td> <td>337.323</td> <td>5</td> </tr> <tr> <td>Catalpol</td> <td>385.2</td> <td>151</td> <td>203.072</td> <td>23</td> </tr> <tr> <td>Loganin (Iridoidglycoside)</td> <td>413.2</td> <td>157</td> <td>219.203</td> <td>25</td> </tr> <tr> <td>beta-Sitosterol</td> <td>415.3</td> <td>117</td> <td>119.186</td> <td>31</td> </tr> <tr> <td>Mangiferin</td> <td>423.1</td> <td>106</td> <td>273.194</td> <td>27</td> </tr> <tr> <td>NO532</td> <td>432.1</td> <td>150</td> <td>145.094</td> <td>25</td> </tr> <tr> <td>Schizandrin</td> <td>433.3</td> <td>98</td> <td>415.407</td> <td>11</td> </tr> <tr> <td>Ginsenoside Rg1</td> <td>823.5</td> <td>206</td> <td>643.504</td> <td>36</td> </tr> <tr> <td>Ginsenoside Rb1</td> <td>1109.6</td> <td>164</td> <td>163.045</td> <td>39</td> </tr> </tbody> </table>	Ingredient substances	Precursor Ion	TL	Product Ion	CE	Ferulic acid	195.0	82	177.196	10	Tolbutamide	271.1	90	91.128	34	Conjugated linoleic acid (CLA)	281.2	83	263.379	5	Kaempferol	287.1	125	153.157	34	Berberine chloride	336.2	99	320.265	31	Sesamin	355.2	95	337.323	5	Catalpol	385.2	151	203.072	23	Loganin (Iridoidglycoside)	413.2	157	219.203	25	beta-Sitosterol	415.3	117	119.186	31	Mangiferin	423.1	106	273.194	27	NO532	432.1	150	145.094	25	Schizandrin	433.3	98	415.407	11	Ginsenoside Rg1	823.5	206	643.504	36	Ginsenoside Rb1	1109.6	164	163.045	39
Ingredient substances	Precursor Ion	TL	Product Ion	CE																																																																								
Ferulic acid	195.0	82	177.196	10																																																																								
Tolbutamide	271.1	90	91.128	34																																																																								
Conjugated linoleic acid (CLA)	281.2	83	263.379	5																																																																								
Kaempferol	287.1	125	153.157	34																																																																								
Berberine chloride	336.2	99	320.265	31																																																																								
Sesamin	355.2	95	337.323	5																																																																								
Catalpol	385.2	151	203.072	23																																																																								
Loganin (Iridoidglycoside)	413.2	157	219.203	25																																																																								
beta-Sitosterol	415.3	117	119.186	31																																																																								
Mangiferin	423.1	106	273.194	27																																																																								
NO532	432.1	150	145.094	25																																																																								
Schizandrin	433.3	98	415.407	11																																																																								
Ginsenoside Rg1	823.5	206	643.504	36																																																																								
Ginsenoside Rb1	1109.6	164	163.045	39																																																																								

Table 3. Negative LC-MS/Ms Analytical Condition for Oleanolic Acid & Brynolic Acid

Condition	
Mobile phase	Acetonitrile/DW (0.1% Formic-acid) (95:5, v/v)
Flow rate	300 uL/min
Injection volume	5 ul
Mass condition	XCALIBUR 2.0 software Spray voltage : Negative 4.0 kV Transfer capillary temperature : 350 °C Sheath gas pressure : 40, Aux gas pressure : 15 Collision energy : Oleanolic acid 51, Brynolic acid 42 SRM mode : Negative - Brynolic acid ion transitions m/z 455.2>425.3 - Oleanolic acid ion transitions m/z 455.4>407.4

Table 4. Negative LC–Ms/Ms Analytical Condition for Cucurbitacine E

Condition	
Mobile phase	Acetonitrile/DW (0.1% Formic-acid) (85:15, v/v)
Flow rate	300 uL/min
Injection volume	5 ul
Mass condition	XCALIBUR 2.0 software Spray voltage : Negative 3.5 kV Transfer capillary temperature : 263 °C Sheath gas pressure : 40, Aux gas pressure : 15 Vaporizer temperature : 100 °C Collision energy : 14 SRM mode : Negative - Ion transitions m/z 555.2>495.6, 477.6, 409.2

Table 5. Negative LC–Ms/Ms Analytical Condition for Citruline

Condition	
Mobile phase	Acetonitrile/DW (0.1% Formic-acid) (15:85, v/v)
Flow rate	Citruline : 250 uL/min
Injection volume	5 ul
Mass condition	XCALIBUR 2.0 software Spray voltage : Negative 3.5 kV Transfer capillary temperature : 257 °C Sheath gas pressure : 40, Aux gas pressure : 20 Vaporizer temperature : 150 °C Collision energy : 16 SRM mode : Negative - Ion transitions m/z 174.0>131.2

### III. 결과 및 고찰

당뇨병은 한의학적으로 肝火熾盛, 腎水不足, 脾胃積熱, 心火偏盛, 飲食失調, 心志失常 등의 병인으로 火熱에 의해 津液이 모순되어 발병된다고 보았고 주요치법으로 淸熱補陰이나 淸火, 生津 등이 기본이 된다. 따라서 저자는 임상에서 前述한 효과가 있는 천화분과 생지황 백강잠, 맥문동을 주약으로 하는 당뇨환을 작방하여 다용하였다.

임상적 체득에 의한 당뇨환의 당뇨병에 대한 효능을 실험적으로 검증하기 위한 일차적인 방법으

로 처방의 효과를 나타내는 약물에 대한 본초학적 인 주치작용뿐 아니라 약리화학적 분석을 통해 지표물질을 확인하고 개별 약재가 어떠한 효과에 기여하는지 확인할 목적으로 본초학교과서 및 대한약전, 대한약전의 한약(생약)규격집, 중국약전 및 Sci-Finder 등 여러 문헌 조사를 통하여 당뇨치료 효과를 나타내는 성분을 조사하였다<sup>10-12</sup>.

당뇨환의 본초학적 약물효능을 살펴보면 天花粉은 性은 微寒하고 味는 甘微苦酸하며 生津止渴, 消腫排膿의 효능이 있어 熱病, 煩渴, 肺熱燥咳, 內熱消渴, 瘡瘍腫毒 등을 치료한다. 麥門冬은 백합과에

속하는 다년생 상록초본으로 味는 甘微苦微寒하고 養陰潤肺 清心除煩 益胃生津의 효능이 있어 燥咳, 陰虛勞嗽, 胃陰不足, 內熱消渴, 心煩失眠 등을 치료한다. 生地黃은 地黃의 신선한 塊根으로 甘苦大寒하고 清熱涼血, 生津止渴의 효능이 있어 大熱, 煩渴, 吐衄, 發斑 등을 치료한다. 白僵蠶은 누에(*Bombyx mori* Linne)의 유충이 백강병균의 감염에 의한 백강병으로 경직사한 충체로써 息風止癢, 疏散風熱, 化痰散結, 清熱解毒, 清熱燥濕 등의 효능이 있으며 특히 白僵蠶의 당뇨에 대한 현대 약리학적 연구로는 고혈당 억제, 지방간 억제, 총콜레스테롤 감소<sup>13</sup>, 신장손상 억제 등의 효과<sup>14</sup>가 보고되었다. 人蔘은 甘微苦溫하고 大補元氣, 補脾益氣, 生津止渴, 寧神益智의 효능이 있어 一切虛損, 脾氣虧虛, 消渴, 眩暈, 久虛不復 등의 병증을 치료한다. 五加皮는 오갈피나무의 根皮 혹은 樹皮로써 辛苦溫하고 祛風濕, 強筋骨, 利水消腫의 효능으로 風濕痹痛, 水腫, 小便不利 등을 치료한다. 茯苓은 구멍쟁이버섯과의 균류식물인 茯苓의 菌核으로 甘淡平하고 利水滲濕, 健脾補中, 寧心安神的 효능으로 小便不利, 水腫, 痰飲, 脾氣虛弱, 失眠 등의 병증을 치료한다. 白扁豆는 번두콩(까치콩)의 성숙한 종자이며 甘微溫하고 消暑化濕, 健脾止瀉 등의 효능이 있어 暑濕腹痛, 脾虛泄瀉, 赤白帶下 등을 치료한다. 黃蓮은 苦寒하고 清熱燥濕, 清心除煩, 瀉火解毒 등의 효능이 있어 心煩, 消渴, 濕熱下痢 등을 치료한다. 知母는 苦甘寒하고 清熱除煩, 滋陰降火的 효능이 있어 高熱煩渴, 陰虛潮熱, 津傷口渴, 消渴 등의 병증을 치료한다. 五味子는 酸溫하고 斂肺滋腎, 生津斂汗, 澀精

止瀉, 寧心安神的 효능이 있어 津傷口渴, 盜汗, 遺精, 心悸失眠 등의 증상을 치료한다. 蓮子肉은 甘澀平하고 養心安神, 益腎苦澀, 健脾止瀉의 효능이 있어 虛煩, 驚悸, 失眠, 遺精, 帶下 등을 치료한다<sup>12</sup>. 따라서 본 처방의 약재들은 대부분 清熱과 生津, 補益의 효능으로 소갈과 당뇨병의 대표적인 증상인 多飲, 多尿, 多食을 조절하고 진액을 보존하며 권태와 피로, 체중변화 등을 치료를 할 수 있다.

한편 약리화학적 분석으로 보면 본 실험에 사용된 당뇨병 추출물을 LC-MS/MS로 분석한 결과, 문헌조사로부터 설정한 지표물질 중 Citruline, Catalpol, Berberine, Ginsenoside Rb1, Ginsenoside Rg1, Oleanolic acid,  $\beta$ -Sitosterol, Mangiferin 및 Schizandrin 등 9가지의 성분이 검출되었으며, 나머지는 검출되지 않았는데 이를 Table 6에 정리하였다. 이는 각 성분에 대한 용해도에서 기인된 것이거나 생약기원에 따른 것으로 해석된다. 상대적으로 적은 양이 함유되어 있는 성분분석을 위해 별다른 용매변화를 주지 않고 공통된 용매로의 추출 방법을 사용하였기에 검출한계에 의한 불검출과 추출과정에서의 성분물질의 변화 등이 불검출의 원인일 것으로 사료된다. 당뇨병 1.0 g을 기준으로 한 메탄올:에탄올:물(4:4:2, v/v/v) 혼합용매 및 메탄올 단일용매로 추출한 각 지표성분별 함량을 Fig. 2에 정리하였다. 혼합용매를 사용했을 시 메탄올 단독 용매에서와 달리 Catalpol이 검출되지 않았는데 메탄올에 대한 Catalpol의 용해도가 높기 때문이라고 추정된다.

Table 6. 9 Bioactive Substances in Herbal Medicine

生藥名	天花粉 知母	黃 蓮	人 蔘	人 蔘, 麥門冬	麥門冬, 五味子	知 母	五味子	生地黃
약리 성분	Citrulline	Berberine	Ginsenoside Rg1	Oleanolic acid	β-Sitosterol	Mangiferin	Schizandrin	Catalpol
약 리	이노작용, 지방분해 촉진, 면역강화, 부종 완화	항당뇨, 혈당강하, 콜레스테롤 억제, 심혈관 개선	중성지방 분해억제, 중추흥분, 항스트레스, 항피로작용, 면역기능, 항산화	항당뇨, 혈당강하, 용혈작용, 항암, 항변이성	항당뇨, 항산화, 전립선비대 치료	항당뇨, 항산화, 항암	항당뇨, 신혈관형성 억제, 간보호, 발기부전치료	혈당강하, 이노작용, 면역강화, 통증완화
함유 천연물	여주, 호두, 수박, 자주개자리	황벽나무, 애기똥풀, 피나무, 매자나무, 갯깁이풀	죽절인삼, 돌외	감초, 더덕, 두릅나무, 할미꽃	모란, 모과나무, 감자, 반하, 울무, 천문동, 참당귀, 황금	석위	산수유	개오동, 꽃머느리밥풀

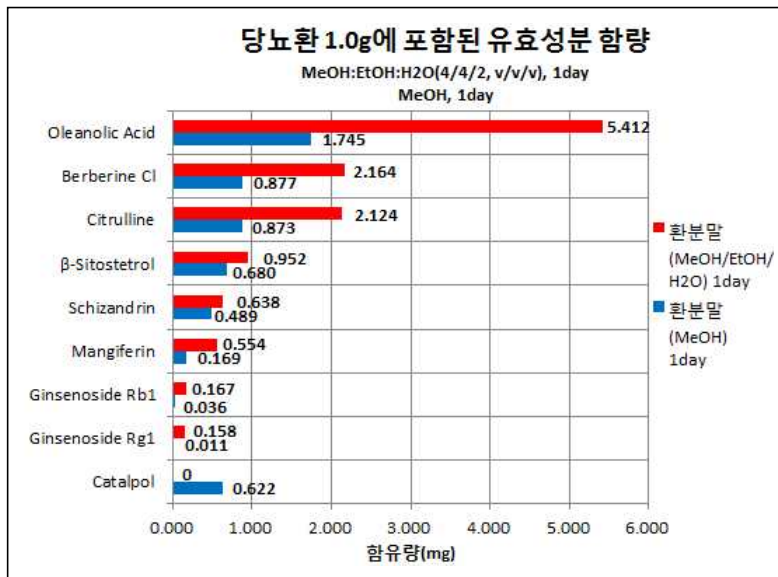


Fig. 2. Amounts (mg) of bioactive substance detected from LC-MS/MS analysis.

검출된 9가지 지표물질 중 가장 함유량이 많은 Oleanolic acid 의 경우 β-아미린계 올리반 골격이 있는 트리테르펜의 일종이며, 올리브(Olea europaea) 앞에서 최초로 분리되었고 인삼, 복령, 감초, 더덕, 두릅나무, 할미꽃 쓴풀, 용담(Gentiana lutea) 등

널리 식물계에도 분포하고 있다. 염증과 중앙치료 에도 효과가 있으며 Anti-AIDS 및 Anti-HIV 활성 도 보고된 바 있고, 많은 논문<sup>15,16</sup>에서 혈당강하효 과에 따른 항당뇨에 대한 내용을 찾아볼 수 있다. Berberine은 황련(Coptis japonica) 뿌리, 황벽나무

(*Phellodendron amurense*) 수피, 매발톱나무의 일종 (*Berberis vulgaris*)의 뿌리, 애기뽕풀, 피나무, 매자 나무, 깽깽이풀 등의 뿌리 등에서 얻는 아이소퀴놀린알칼로이드의 한 종류로 쓴맛이 나므로 한의학에서 황련과 황백은 고미건위약(苦味健胃藥) 및 강장제로 쓰인다. 또한 berberine는 강압작용이 있으며 혈관을 직접 확장하고, 이담작용이 있어 담즙의 형성을 증가하여 담즙을 묽게 하고 혈청 콜레스테롤을 낮추는 작용을 한다<sup>17,18</sup>. 또한 위액분비를 억제하는 작용<sup>19</sup>이 있으므로 스트레스성 위궤양 완화제로도의 용도도 있어 최근 들어 berberine는 혈압강화효과를 보이는 물질로 많은 연구대상이 되고 있다. Citruline는 아미노산의 전구물질로 체내에서 L-arginine으로 대사되며, 최종적으로 요소로 분해될 때 암모니아를 사용하여 무독화시키며, 소변의 양을 증가시키게 된다. 천화분, 지모, 여주, 호두나무, 수박, 자주개자리 등에 존재하여 이노작용, 혈류량 증가 등에 효능이 있으며 에너지 생산, 지방분해 촉진, 면역능력을 향상시킨다고 알려져 있다<sup>20</sup>.  $\beta$ -Sitosterol은 대표적인 식물스테롤로 비타민 D의 전구물질이며 콜레스테롤의 흡수를 저해하는 작용<sup>21</sup>이 있다. Catalpol은 혈당강화작용, 이노작용과 완화작용이 있다<sup>22</sup>고 알려져 있는데 한방 보약으로 사용하는 六味地黃丸 등의 처방에서도 사용된 地黃의 대표 약리 성분으로 catalpol이 고혈당에 대해 현저하게 혈당강화작용을 하고 이노작용을 한다. Schizandrin은 Lignin계열 약리물질로서 신혈관형성억제에 의한 항암효과<sup>23</sup>, 동물투여 CCl<sub>4</sub>에 의해 유도된 간손상의 보호작용을 가지며 GPT의 상승을 뚜렷하게 억제해 혈당을 내리고 갈증을 해소하는 데 도움이 된다고 알려져 있다<sup>24</sup>.  $\gamma$ -schizandrin은 병적으로 높아진 효소단위를 저하시키고 간장 보호작용을 보이며, 스트레스성 위양 예방작용, 진통작용, 위액 분비억제작용에 대한 보고도 있다. Mangiferin은 Gamma-Pyrone계열 약리물질로서, 크산톤 유도체의 하나인데 항산화효과가 뛰어나 비만위험을 낮추고, 혈액 내 콜레스테롤은 줄이며<sup>25,26</sup>,

뇌의 신경세포를 보호하는 물질이고, 유방암, 폐암, 위암 등에 도움을 준다고 알려져 있다. Ginsenoside Rb<sub>1</sub>은 Saponin계열 약리물질로서, 중추신경억제, 최면, 진통, 정신안정, 해열, 혈청단백질합성 촉진 작용, 중성지방 분해억제, 합성촉진(인슐린유사)작용, 콜레스테롤 생합성 촉진, RNA합성 촉진, 부신피질 호르몬 분비촉진, 학습기억 개선, 섭식억제, Plasmin 활성화작용을 하며 Ginsenoside Rg<sub>1</sub>은 Saponin계열 약리물질로서 중추흥분작용, 항스트레스, 항피로, 피로회복 촉진, 면역기능 증진, 학습기억력 증진, DNA 및 RNA 합성 촉진, 스트레스성 행동 장애개선, 고온 및 내인성 발열물질에 대한 완충작용, 혈청 콜레스테롤 저하, Plasmin 활성화, 항노화 및 건망증 예방 효과를 보인다고 알려져 있다<sup>27-29</sup>.

한편 약사법 제52조 제1항 ‘생약 등의 잔류오염물질기준 및 시험방법’에 의하여 유도결합플라즈마분광기(ICP Spectrometer)를 이용하여 분석한 결과는 아래 Table 7과 같다. 중금속시험 결과, Fig. 3에 나타난 것과 같이 아연(Zn)의 함량이 높은 다른 천연물(식품)과 비교할 경우에도 아연 함량이 상대적으로 높는데, 본 연구에 사용된 당뇨병환 100 g 속에는 아연(Zn) 4.2 mg(42 ppm)이 포함되어 있고, 이는 키조개 및 달걀노른자에 함유된 아연과 유사한 수치(성인 하루 권장 섭취량의 약 50%)로 당뇨병 치료뿐만 아니라 면역체계 강화<sup>30,31</sup>에도 효과가 있을 것으로 추측된다.

Table 7. The Content of Residual Heavy Metal

중금속	함량 (ppm)	허용 기준	표준액 상관계수
비소 (As)	nd	3.0 이하	0.999984 (188.979 nm)
납 (Pb)	1.22	5.0 이하	0.999991 (220.353 nm)
카드뮴 (Cd)	nd	0.3 이하	0.999990 (228.802 nm)
수은 (Hg)	0.056	0.2 이하	0.9994
니켈 (Ni)	2.60	-	0.999993 (231.604 nm)
구리 (Cu)	16.17	-	0.999994 (324.752 nm)
아연 (Zn)	41.87	-	0.999990 (213.857 nm)



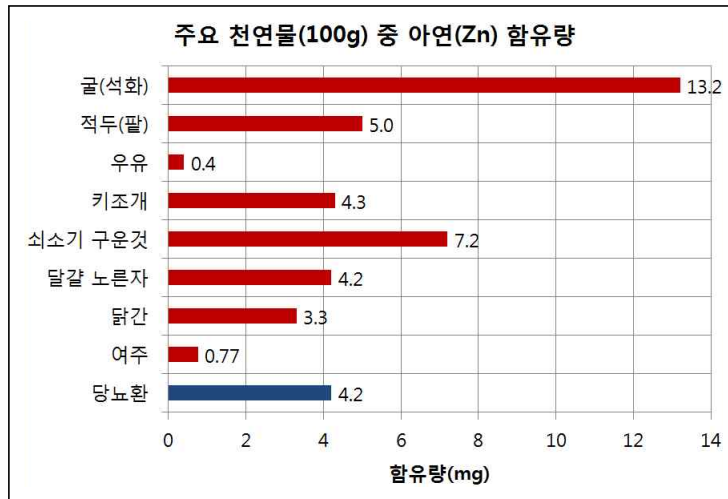


Fig. 3. The content of Zinc in the various natural products (mg/100 g)

#### IV. 결 론

당뇨환에 포함된 Bioactive한 유효성분을 분석하기 위해 LC-MS/MS 및 ICP를 이용 정성, 정량 분석을 실시하였으며 그 결과 문헌 조사를 통해 선정된 18종의 표준물질 중 Olenolic acid를 비롯한 9종이 검출되었다. 또한 인체에 유해한 중금속은 거의 검출되지 않았거나 또는 허용치 이하의 미량 검출된 반면, 아연(Zn)의 경우 당뇨환 100 g 중 4.2 mg 포함하고 있는데 이는 키조개 및 달걀노른자에 함유된 아연과 유사한 수치로 당뇨병 치료에 도움을 줄 뿐만 아니라 면역체계 강화에도 효과가 있을 것으로 생각된다. 나아가 이러한 화학적 분석방법을 통해 처방의 효과를 나타내는 대표물질의 확인과 효능의 과학적 검증에 유용한 기초자료가 제공될 수 있으며 현재 진행 중인 *in vitro* 실험, 잔류농약검출 실험 및 임상실험 등을 통해 보다 객관적이고 포괄적인 당뇨치료제로써의 당뇨환의 반응 기작에 대한 확인이 가능하리라 기대된다.

#### 참고문헌

1. 보건복지부통계포털:통계포털-통계발간물-주제별발간물-질병건강-2013국민건강통계. 54-55. <http://stat.mw.go.kr/front/statData/publicationView.jsp?menuId=47&bbsSeq=13&nttSeq=21549&searchKey=&searchWord=&nPage=1&topSelect=B00005>
2. 전국한의학대학교 신계내과학교실. 신계내과학. 서울: 군자출판사; 2011, p. 89-96, 301-12.
3. 당뇨병 진료지침. 대한당뇨병학회. 2013.
4. 김도형, 박승찬, 이지혜, 이혜윤, 조민경, 최준용, 김소연, 박성하. 당뇨병의 한의학적 치료에 대한 최신 연구 동향 - 2008년부터 2013년까지 국내 학술논문을 중심으로 -. 대한한방내과학회지 2013; 34(3):240-55.
5. 유영범, 김미정, 황대선, 하혜경, 마진열, 신현규. HPLC-MS/MS에 의한 사물탕의 지표성분 분석. 대한본초학회지 2007;22(2):97-102.
6. 박성진, 성동호, 박동식, 김승섭, 고정유, 안주희, 외. 발효더덕의 화학성분. 한국식품영양학회지 2009; 38(3):396-400.

7. 성기천, 천연 강황 추출물의 약리화학적 특성 및 분석. *한국유화학회지* 2011;28(4):393-401.
8. 서창섭, 신현규. LC-MS/MS를 이용한 당귀수산 추출물 중 17종 성분의 함량분석. *약학회지* 2014; 8(3):158-64.
9. 황영명, 유명법, 김종열, 고병희, 이의주, 태음인 가미조위탕의 HPLC 분석. *사상체질의학회지* 2006;8(1):147-54.
10. Xie W, Du L. Diabetes is an inflammatory disease: evidence from traditional Chinese medicines. *Diabetes, Obesity and Metabolism* 2011;13:289-301.
11. Li WL, Zheng HC, Bukuru J, De Kimpe N. Natural medicines used in the traditional Chinese medical system for therapy of diabetes mellitus. *J of Ethnopharmacology* 2004;92:1-21.
12. 신민교. *臨床本草學*. 서울: 永林社; 2012, p. 188, 252, 265, 280, 368, 369, 402, 505, 619, 650, 717, 806.
13. Yoon SH, Ha H. The Effect of Bombycis corpus on Streptozotocin - induced Diabetic Rats. *J Korean Soc Hygienic Sciences* 2006; 6(1):11-22.
14. Cong L, Cao G, Renyu X, Zhonghua P, Xiaojian Z, Zhou W, Gong C. Reducing blood glucose level in T1DM mice by orally administering the silk glands of transgenic hIGF-I silkworms. *Biochem Biophys Res Commun* 2011;410(4):721-5.
15. Yamahara J, Mibu H, Sawada T, Fujimura H, Takino S, Yoshikawa M, Kitagawa I. Biologically active principles of crude drugs. Antidiabetic principles of Corni fructus in experimental diabetes induced by streptozotocin. *Yakugaku Zasshi* 1981;101:86-90.
16. Lin G, Xu XD, Liu D, Ju JH, Yang JS, Study on chemical constituents of *Aralia decaisneana*. *Chinese Pharmaceutical Journal* 2000;35:298-300.
17. Zhou J, Zhou S, Tang J, et al. Protective effect of berberine on beta cells in streptozotocin- and high-carbohydrate/high-fat diet-induced diabetic rats. *Eur J Pharmacol* 2009;606:262-8.
18. Liu L, Yu YL, Yang JS, et al. Berberine suppresses intestinal disaccharidases with beneficial metabolic effects in diabetic states, evidences from in vivo and in vitro study. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* 2010; 381:371-81.
19. Pan GY, Huang ZJ, Wang GJ, Fawcett JP, Liu XD, Zhao XC, Sun JG, Xie YY. The antihyperglycaemic activity of berberine arises from a decrease of glucose absorption. *Planta Medica* 2003;69:632-6.
20. Cox M, Lehninger AL, Nelson DR. *Lehninger principles of biochemistry*. 3rd ed. W. H. Freeman and Company; 2000, p. 92-3.
21. Park EH, Kahng JH, Lee SH, Shin KH. An anti-inflammatory principle from cactus. *Fitoterapia* 2001;72:288-90.
22. Huang WJ, Niu HS, Lin MH, Cheng JT, Hsu FL. Antihyperglycemic effect of catalpol in streptozotocin-induced diabetic rats. *J Nat Prod* 2010;73:1170-2.
23. 윤미소, 김도윤, 유호진, 박주훈, 장상희, 원경중, 김보경, 이환명. Schizandrin의 신혈관형성억제에 의한 항암효과. *동의생리병리학회지* 2012; 26(5):687-92.
24. Chang R, Li Y, Yang X, Yue Y, Dou L, Wang Y, Zhang W, Li X. Protective role of deoxyschizandrin and schisantherin a against myocardial ischemia-reperfusion injury in rats. *PloS one* 2013;8(4):e61590.
25. Lu WQ, Qiu Y, Li TJ, et al. Timosaponin B-II inhibits pro-inflammatory cytokine induction

- by lipopolysaccharide in BV2 cells. *Arch Pharm Res* 2009;32:1301-8.
26. Muruganandan S, Srinivasan K, Gupta S, Gupta PK, Lal J. Effect of mangiferin on hyperglycemia and atherogenicity in streptozotocin diabetic rats. *Journal of Ethnopharmacology* 2005;97:497-501.
  27. Lee HA, Kwon SO, Lee HB. Hypoglycemic action of components from red ginseng: (I). Investigation of the effect of ginsenosides from red ginseng on enzymes related to glucose metabolism in cultured rat hepatocytes. *Journal of Ginseng Research* 1997;21:174-86.
  28. Lee HA, Sim HS, Choi KJ, Lee HB. Hypoglycemic action of red ginseng components (II): investigation of the effect of fat soluble fraction from red ginseng on enzymes related to glucose metabolism in cultured rat hepatocytes. *Journal of Ginseng Research* 1998;22:51-9.
  29. Yamasaki K. Effect of some saponins on glucose transport system. Book of Abstracts, 21th ACS National Meeting, Part 1. Chicago: American Chemical Society; 1995, p. 223.
  30. Milbury PE, Richer AC. Understanding the Antioxidant Controversy: Scrutinizing the "fountain of Youth". London: Greenwood Publishing Group; 2008, p. 99.
  31. Keen CL, Gershwin ME. Zinc deficiency and immune function. *Annual review of nutrition* 1990;10:415-31.